



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Establishment and application of endosperm culture systems to produce polyploid plants in Amaryllidaceae [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	中野, 有紗
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第14771号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85816
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	NAKANO_Arisa_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士（環境科学）

氏 名 中 野 有 紗

審査委員 主査 教 授 星野 洋一郎
副査 教 授 山羽 悦郎
副査 准教授 中村 剛
副査 助 教 平田 聡之
副査 教 授 神戸 敏成（龍谷大学農学部）

学 位 論 文 題 名

Establishment and application of endosperm culture systems
to produce polyploid plants in Amaryllidaceae

（ヒガンバナ科植物における倍数体作出を目的とした胚乳培養系の開発と
応用に関する研究）

ヒガンバナ科植物には、スイセンやリコリス、クリナムといった魅力的な花をもつ種が多く属し、観賞用として広く栽培および利用されている。これらの植物種に倍数性育種を適用するため、倍数体作出方法として胚乳培養の応用を検討した。多くの被子植物において二倍性植物の胚乳は、二核性の中央細胞と半数性の精細胞との融合により形成される三倍性組織である。この三倍性組織に着目し、組織培養により二倍体植物から直接、三倍体を作出することができる胚乳培養の利点をヒガンバナ科植物に適用しようと試みた。胚乳培養の報告例は単子葉植物では乏しいことから、研究の端緒として、ヒガンバナ科植物のうち胚乳培養による植物体再生が可能な植物種の選定を進めた。

ヒガンバナ科の主要なグループであるヒガンバナ亜科に属する16属27種の植物を対象に胚乳培養によるカルス誘導を試みた。培養にはオーキシンとしてピクロラム、サイトカイニンとしてベンジルアミノプリンを添加したMS培地を用いた。胚乳培養の結果、6属10種においてカルスが誘導された。カルスが胚乳組織に由来することを調査するため、相対的核DNA含量をフローサイトメーターにより測定し、カルスの倍数性が胚乳組織と同一であることを解析した。その結果、*Cyrtanthus mackenii*, *Haemanthus albiflos*, *H. pauculifolius*, *Scadoxus multiflorus*において得られたカルスは胚乳由来であると考えられた。次に、最も高いカルス誘導率を示した*H. albiflos*において、胚乳の成熟度、部位、および培地組成におけるカルス誘導率およびシュート再生率を調査した結果、由来する種子による変動がみられたものの、安定的なカルス誘導および不定芽再生が観察された。

胚乳培養の利用可能性を広げるために、開発した*H. albiflos*の胚乳培養系を利用

し、六倍体の作出を試みた。六倍体作出は、染色体不対合による不稔性を示す三倍体の稔性回復を目的に行われている。胚乳培養により誘導した三倍性カルスに、有糸分裂阻害剤であるコルヒチン进行处理し、不定芽再生培地で培養を行った。同時に、不定芽を再生しつつあるカルスの組織学的観察により不定芽再生経路の調査も行った。処理を施したカルスから再生した不定芽は、小植物体へ成長した。フローサイトメーターおよび染色体数の調査による倍数性判定の結果、再生した小植物体集団において六倍体の存在が確認された。本研究は、胚乳培養とコルヒチン処理の組み合わせにより、二倍体同士の交雑に由来する種子の胚乳組織から六倍体が作出可能であることを明らかにした。また、組織学的観察の結果、カルスは不定胚形成および不定芽形成の二種類の経路を保持していることが明らかになった。

次に、胚乳培養の過程で得られる未熟胚の活用方法として、四倍体および八倍体の作出を試みた。上述の*H. albiflos*の胚乳培養の過程で得られた未熟胚を、胚乳培養と同様にピクロラムとベンジルアミノプリンを添加したMS培地で培養し、未熟胚由来の二倍性カルスを誘導した。さらに、カルスに対してコルヒチン処理を行ったのち、植物成長調節物質を含まない1/2MS培地を用いて分化誘導を試みた。再生した小植物体における倍数性調査の結果、コルヒチン処理を施したカルスから四倍体および八倍体が再生していることが明らかになった。先行研究では、しばしば異なる倍数性の細胞が混在するmixoploidによる倍数体作出効率の低下が報告されている。本研究では、mixoploidは1個体であり、高い倍数体作出効率を示した。これは、不定胚による再生経路が関与していると考えられた。

本研究は、ヒガンバナ科植物における胚乳培養系を開発するとともに、胚乳培養の利用可能性を拡大することで二倍体間の交雑由来の種子から、二倍体、三倍体、四倍体、六倍体および八倍体を作成可能であることを実証した。これは倍数性育種の課題である長期間の作出期間や倍数体間交雑の障壁を克服しうるものであり、今後の倍数性育種に資することが期待される。また、本研究で開発された*H. albiflos*の胚乳培養系は安定したカルス誘導および植物体再生が可能であることから、今後、分子遺伝学的研究への利用により胚乳組織における植物体再生機構の解明への貢献が期待される。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や習得単位などもあわせ、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。